

Organizzazione del corso

4 CFU lezioni in aula

2 CFU esercitazioni & seminari

La frequenza è consigliata ed è propedeutica per le esercitazioni

Esami propedeutici consigliati:

Chimica generale ed inorganica

Chimica organica

Chimica Analitica

Materiale didattico: slides e parti di libri di testo fornite/consigliate di volta in volta

ANALISI DEI PRODOTTI ALIMENTARI Cabras e Tuberoso; Piccin

Modalità esame: orale unico

Il significato delle analisi chimiche e fisiche sui prodotti alimentari

a garanzia della CONFORMITA'

alla legge
alle specifiche di prodotto

- sicurezza
- proprietà nutrizionali
- proprietà sensoriali

verifica di sopravvenute alterazioni a seguito di metodi impropri di produzione e conservazione (rischio per la salute, compromissione delle proprietà nutrizionali e/o sensoriali)

verifica di adulterazioni a seguito di sottrazione di componenti pregiati, sostituzione di materie prime, mascheramento di difetti

verifica delle prestazioni del prodotto: costanza della "qualità", paragone con i competitors....

Argomenti

Latte Alimentare

Olio d'oliva

Vino

Prodotti da forno

Il ruolo dell'acqua nei PA

Composizione

I limiti di legge e le analisi per la verifica della conformità

Scopo, Principio, Procedura ed espressione del risultato

Determinazioni analitiche di indici della qualità nutrizionale, tecnologica, sensoriale

IL LATTE

Principi nutritivi: proteine, vitamine, grassi e sali minerali

Il valore alimentare del latte dipende principalmente dal suo contenuto di proteine: lattealbumina, lattoglobulina e protidi complessi (caseinogeno, una fosfoproteina che, coagulando, dà la caseina)

La caseina e la lattealbumina sono proteine complete, cioè che contengono tutti gli aminoacidi necessari per il fabbisogno del nostro organismo.

Proteine e caseificazione

Frode per annacquamento e aggiunta di melamina a mascherare la diminuzione del titolo proteico

IL LATTE ALIMENTARE :



Le informazioni riportate in etichetta:

1. data di scadenza: dipende dal trattamento termico che ha subito il latte prima di essere posto in commercio
2. numero di lotto
3. denominazione di vendita: informa circa il **contenuto di grasso** (non inferiore a 3.2% nel latte intero, compreso fra 1.8 e 2.5% in quello parzialmente scremato, inferiore a 0.5% in quello scremato) e le **modalità di trattamento termico** che ha subito il latte
4. quantità netta
5. logo dell'azienda
6. nome commerciale di fantasia
7. informazioni sul paese d'origine del latte crudo (non obbligatoria per questa categoria di prodotto).
8. tipo di sistema di confezionamento in asettico
9. tabella nutrizionale: la quantità di proteine e di grasso presenti nel latte sono fissate per legge in funzione della denominazione di vendita.
10. codice a barre dal quale per esempio si può risalire al paese di provenienza
11. **modalità di conservazione: assicurano la conservazione del latte fino alla data di scadenza**

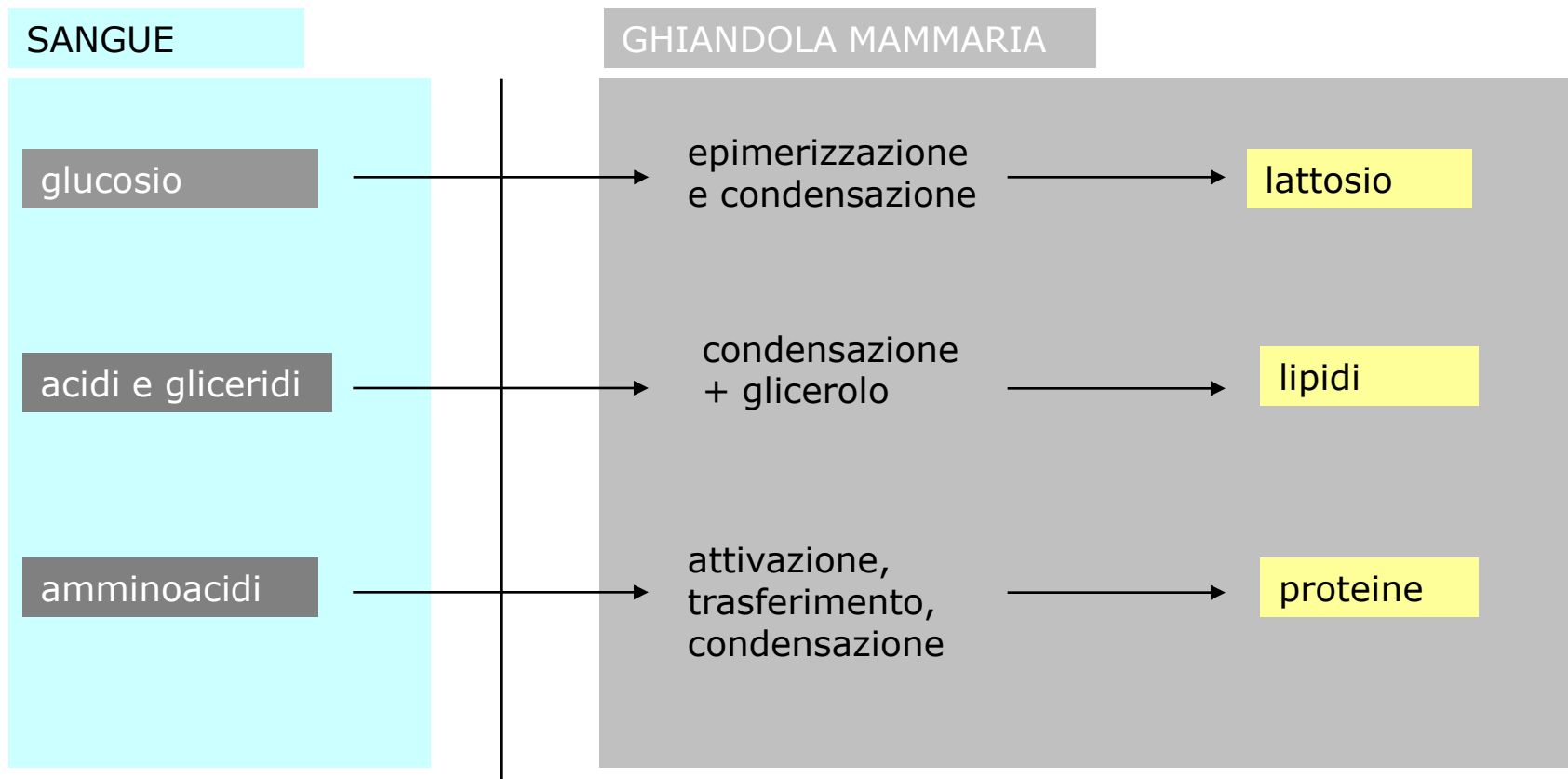
STRUTTURA E COMPOSIZIONE DEL LATTE

Miscela complessa di molte sostanze diverse di notevole importanza nutrizionale

La sintesi dei suoi componenti avviene nella ghiandola mammaria:

Proteine e grassi vengono sintetizzati e quindi veicolati nella *cisterna del latte* all'interno di vacuoli derivanti dal reticolo endoplasmatico

La produzione di latte è legata al circolo sanguigno: alcune sostanze molto semplici diffondono dal sangue al latte, altre invece usano sistemi di trasporto specializzati che ne favoriscono ed accelerano il passaggio



Caratteristiche chimico-fisiche

Eterogeneità fisica

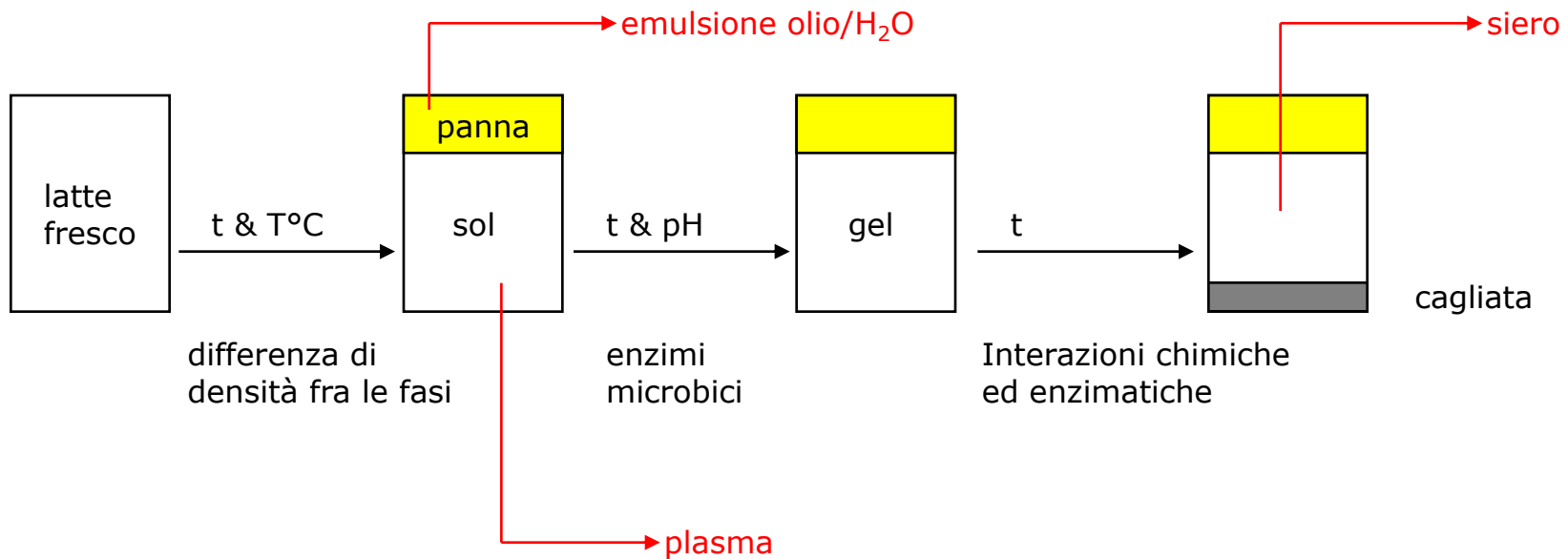
Eterogeneità chimica

Variabilità di composizione

Complessità dell'organizzazione strutturale dei componenti

Instabilità fra le diverse fasi

Separazione spontanea delle diverse fasi del latte



Fase: ciò che in un sistema eterogeneo costituisce una parte omogenea, qualunque sia il suo grado di suddivisione

Composizione indicativa

▪Acqua	87.3%
▪Zuccheri	4.7%
▪Materia Grassa	3.8%
▪Proteine (Nx6.38)	3.3%
▪Sali	0.9%

ELEMENTI STRUTTURALI				
	Globuli di grasso	Micelle caseiniche	Proteine globulari	Partic. lipoprot.
	latte	plasma	siero	
Componenti	grasso	caseine, H ₂ O, sali	prot. siero	
Stato fisico	emulsione	sospensione pseudo-colloidale	soluzione colloidale	dispersione colloidale
Diametro	0.1-10 µm	10-300 nm	3-6 nm	10 nm
Densità 20°C	0.92	1.11	1.34	1.1
Separabile	scrematrice	centrifugazione	filtr.molec.	filtr.molec.
Flocculazione	aggregazione	coagulanti & acidi	calore	-

soluzione vera
Zuccheri
Sali

Cause di variazione della composizione del latte

Fattori ereditari:

attitudine soggettiva

razze

Stato fisiologico:

stadio di lattazione grasso e proteine raggiungono il minimo alla 10 settimana e quindi aumentano fino alla fine della lattazione (45 settimana)

colostro: ricco di proteine (immunoglobuline) e grasso. Poco lattosio. Instabile ai trattamenti termici e poco adatto alla trasformazione

malattie: fenomeni mastitici scarsa funzionalità della mammella.

Fattori ambientali:

stagione

clima

alimentazione

La materia grassa

La quantità di grasso nel latte è estremamente variabile (3-4.6%)

Trigliceridi 98-99%

Fosfolipidi 0.01-0.03% (emulsionanti, componenti membrane)

Steroli (colesterolo) 0.25-0.40

Componenti minori:

ac. grassi liberi (ac.butirrico), carotenoidi, Vit. liposolubili

Caratteristiche distintive

Composizione acidica molto varia*

2/3 ac.grassi saturi

1/3 ac.grassi insaturi essenziali

elevata proporzione ac.grassi volatili

Ac. grassi SATURI

Volatili	butirrico
	caproico
	caprilico
	caprico
	laurico
Fissi	miristico
	pentadecanoico
	palmitico
	stearico
	arachico

Ac.grassi INSATURI

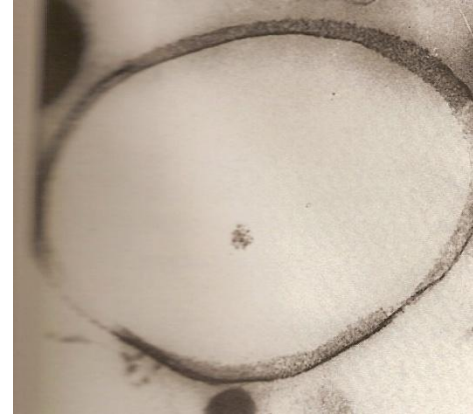
Monoeni	palmitoleico
	vaccinico
	stearico
Poli-insaturi ncg	linoleico
	linolenico
	arachidonico
Poli-insaturi cg <i>essenziali</i>	

I globuli di grasso

Emulsione olio/H₂O

Globuli di dimensione variabile da 0.1 a 10µm

Struttura lamellare



Membrana dei globuli di grasso

Composizione:

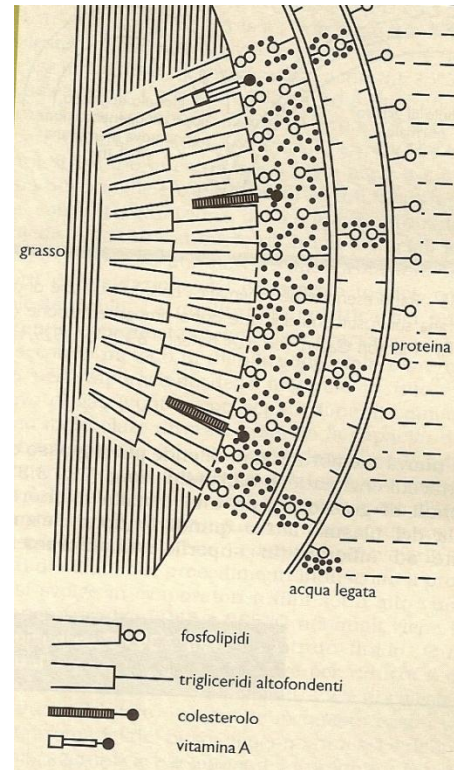
fosfolipidi, lipoproteine, carotenoidi, steroli

Funzioni: protettiva (per es contro le lipasi);
proprietà adsorbenti; proprietà agglutinanti
(affioramento)

Destabilizzazione: az. meccaniche
violente, **omogeneizzazione**, riscaldamento

.....

estrazione del grasso e coalescenza



Perché determinare il contenuto lipidico del latte?

- ❑ Valore nutrizionale
- ❑ Proprietà dei prodotti
- ❑ Conformità alle specifiche

QUANTIFICARE IL CONTENUTO LIPIDICO

1. Metodi analitici basati sul carattere idrofobico di queste sostanze:

principio: estrazione in solventi organici

solubilità dei lipidi nel solvente scelto

capacità di dissociazione dei complessi lipidi/macromolecole

2. Metodi di estrazione senza solvente

3. Metodi strumentali basati sulle proprietà chimiche e fisiche

1. Estrazione senza solvente

Babcock e Gerber

Metodi ufficiali AOAC per la determinazione del contenuto lipidico del latte

Principio:

H₂SO₄ aggiunto al latte digerisce la frazione proteica e scompagina l'organizzazione della fase lipidica permettendo la separazione dei lipidi dalla fase acquosa.

La quantità di grasso presente viene direttamente determinata sulla scala riportata sulla bottiglia di Babcock e sul butirrometro di Gerber.

Evoluzione verso l'impiego di sostanze non corrosive, impiego di detergenti e dispositivi per facilitare la rottura dell'emulsione.

Determinazione della materia grassa

Il tenore in materia grassa si determina con il **butirrometro di Gerber**.

In questo metodo si utilizza acido solforico per sciogliere tutti i componenti del latte ad eccezione dei grassi, che possono essere separati per centrifugazione. Oltre all'acido solforico si aggiunge alcol amilico per estrarre la materia grassa impedendone la carbonizzazione



Nel butirrometro si pongono l'acido solforico, il latte a temperatura ambiente e l'alcol amilico.

Dopo avere scaldato a bagnomaria a 65-70°C per 10 minuti circa e centrifugato si formano 3 strati:

in mezzo uno strato rosso scuro o talvolta violaceo, composto dalle sostanze organiche demolite dall'acido solforico

sopra uno strato oleoso trasparente di colore giallastro composto dalla sostanza grassa

sul fondo uno strato sottile biancastro, composto da sali minerali e sostanze insolubili

Facendo coincidere lo zero della scala graduata con la linea di separazione degli strati rosso scuro e giallastro, si legge il valore % di materia grassa

DETERMINAZIONE della MATERIA GRASSA con il METODO GERBER

SCOPO: determinazione del contenuto lipidico del latte

PRINCIPIO: rottura dell'emulsione olio/acqua mediante l'uso di un acido forte e successiva separazione di fase

VETRERIA: butirrometro di Gerber per il latte vaccino

pipetta a bolla da 11 mL

termometro

centrifuga riscaldata

REAGENTI: H₂SO₄ 90%

alcool isoamilico

PROCEDIMENTO

1. Porre 10 mL di H₂SO₄ 90% nel butirrometro
2. Aggiungere lentamente 11 mL di latte tenendo la pipetta a leggero contatto con la superficie dell'acido
3. Aggiungere 1 ml di alcool isoamilico
4. Chiudere il butirrometro con l'apposito tappo di gomma
5. Capovolgere fino a consentire il completo mescolamento dei reagenti e quindi agitare energicamente (attenzione la rx è fortemente esotermica)
6. Immergere il butirrometro in un bagno a 65°C per 15 minuti
7. Centrifugare a 65°C per 15 minuti
8. Estrarre il butirrometro dalla centrifuga e leggere direttamente il risultato sulla scala graduata

Nota: se la separazione di fase non risultasse soddisfacente ripetere i punti dal 6 al 9.

RISULTATO sulla scala dello strumento si legge direttamente la % di grasso (g/100ml)

2.Estrazione con solvente

DETERMINAZIONE della MATERIA GRASSA con il **METODO gravimetrico** secondo Rose-Gottlieb

SCOPO: determinazione del contenuto lipidico del latte

PRINCIPIO: solubilizzazione della frazione proteica in soluzione ammoniacale e solubilizzazione della sostanza grassa in solvente organico. Rimozione del solvente e determinazione della materia grassa per via gravimetrica

Campo di applicazione: latte liquido

REAGENTI: ammoniaca al 25%

etanolo 95%

miscela etere etilico/etere di petrolio 1:1

PROCEDIMENTO

1. Pesare 10 gr di campione ed aggiungere 1.5 ml di soluzione di ammoniaca al 25%, mescolare e aggiungere 10 ml di EtOH
2. Trasferire la miscela in imbuto separatore ed estrarre con tre aliquote di etere etilico/etere di petrolio (1:1). Raccogliere le aliquote organiche in un pallone
3. Allontanare il solvente per evaporazione mediante distillazione e porre il pallone in stufa a 102°C per 1 ora. Raffreddare in essiccatore e pesare su bilancia analitica. Ripetere fino a peso costante.

Sottoporre alla stessa procedura una prova in "bianco" (acqua al posto del campione)

RISULTATO Differenza in peso fra il pallone con la miscela organica e il peso dopo allontanamento del solvente corretto per il peso determinato nella prova in bianco

$$\%grasso = (g \text{ grasso} / g \text{ campione}) \times 100$$

Gli zuccheri

LATTOSIO

- 4.6%
- disaccaride galattosio+glucosio
- sapore dolce
- indice di funzionalità della ghiandola mammaria (glucosio filtra da sangue, viene isomerizzato a galattosio, la α -lattalbumina catalizza il legame gluc-gal)
- soddisfa alcune necessità nutrizionali dei neonati
- coinvolto in reazioni di modificazione di colore ed aroma a seguito di riscaldamento (imbunimento non enzimatico- Rx di Maillard)
- substrato per fermentazioni microbiche
- concentrazione costante per controbilanciare la pressione osmotica del sangue

Zucchero fermentescibile:

Fermentazione lattica: *1 molecola di lattosio → 4 molecole di acido lattico*

importante in molti processi di caseificazione

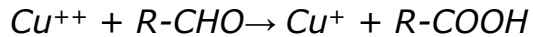
da evitare nel latte destinato all'alimentazione per ragioni di sicurezza (indice di mancato controllo della microflora), per modificazione delle proprietà sensoriali, per instabilità della frazione caseinica

Aumento della concentrazione delle sostanze in soluzione

Aumento dell'acidità

Caratteristiche

- Zuccheri riducenti (il gruppo aldeidico può ossidarsi a carbossile)



- Sostanza otticamente attiva :

determinazione per polarimetria: la rotazione del piano della luce polarizzata dipende: dalla concentrazione del soluto, dalla λ della luce impiegata, dalla T°C, dallo spessore del tubo polarimetrico.

$$\text{POTERE ROTATORIO SPECIFICO} = [\alpha]_D^t = (\alpha/lxc) \times 100$$

Determinazione:

- basata sulle proprietà chimiche (determinazione zuccheri riducenti con il reattivo di Fehling)
- basata sulle proprietà fisiche (polarimetria)
- metodo enzimatico (reazione accoppiata ad una reazione red-ox che genera un segnale UV)

DETERMINAZIONE del LATTOSIO reattivo di Fehling

SCOPO: determinazione del contenuto di lattosio del latte

PRINCIPIO: riduzione del reattivo di Fehling (da un sale di Cu^{2+} blu a Cu_2O rosso)

VETRERIA: matraccio tarato da 100 mL

buretta

beuta da 200 ml

REAGENTI: Ac. acetico

Reattivo A CuSO_4

Reattivo B (sodio potassio tartrato in NaOH)

Blu di metilene

PROCEDIMENTO

1. Porre nel matraccio 5 g di latte e 50ml di acqua
2. Aggiungere qualche goccia di ac. acetico e scaldare a b.m. fino a completa coagulazione (le caseine precipitano e trascinano i globuli di grasso)
3. Portare a 100ml con acqua, agitare e filtrare. Si ottiene così siero limpido che viene messo in una buretta
4. Preparare il reattivo di Fehling con 5 ml di reattivo A, 5 ml di reattivo B e 40 ml di acqua e qualche goccia di blu di metilene (*contiene una concentrazione di sale di rame che può essere ridotto da 0.0687 g di lattosio*)
7. Iniziare a far gocciolare nella beuta il siero dalla buretta. La soluzione nella beuta diventa verdastra (Cu^{2+} e indicatore, Blu + CuO_2 , rosso → soluzione verde).
8. Quando è stato aggiunto tanto siero che tutto Cu^{2+} è stato consumato la prima goccia aggiunta di siero riduce l'indicatore e la soluzione vira al rosso vivo.
9. Leggere sulla buretta la quantità di siero aggiunta necessaria per ridurre il reattivo (che dunque contiene 0.0687 g di lattosio) .

I ml di siero utilizzati per ridurre il reattivo di Fehling rappresentano il responso analitico

CALCOLO DEL RISULTATO

Siano n i ml aggiunti di siero per ridurre completamente il reattivo

n ml : 0.0687g lattosio = 100 ml (volume totale di siero ottenuto da 5g di latte portato a volume con H_2O) : x

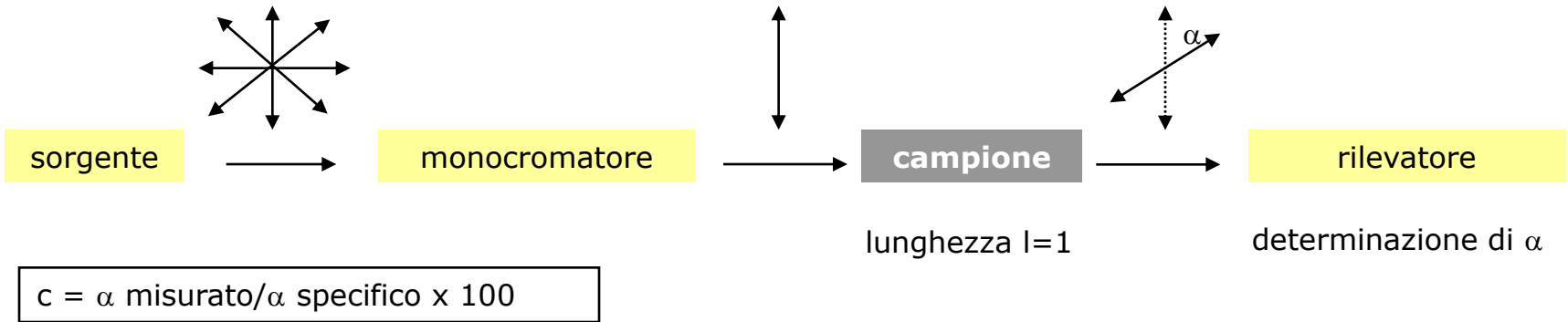
x= grammi di lattosio contenuti nel siero ottenuto da 5 g di latte

g lattosio (x) : 5g latte = x : 100g latte

x= g lattosio % (p/p).

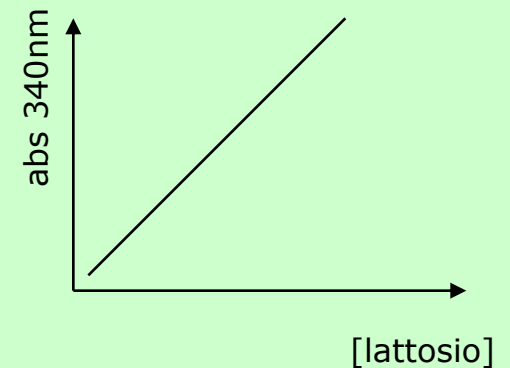
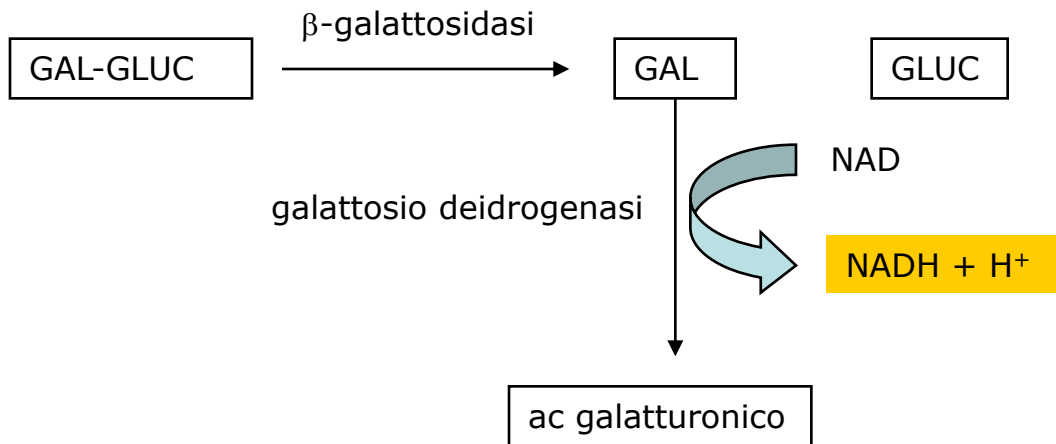
DETERMINAZIONE del LATTOSIO mediante polarimetria

OH su C1 del galattosio in α o β : potere rotatorio specifico $[\alpha]_D^t = (\alpha/c \times l) \times 100 = +55.5$, dove $c = 1$



DETERMINAZIONE del LATTOSIO mediante test enzimatico

Non risente dell'interferenza da parte di altre sostanze riducenti nel campione



Bianco

T1
-
T2+E
H₂O
A1
DH
A2

Bianco Campione

T1
Campione
T2
H₂O
A1
DH
A2

Campione

T1
Campione
T2+E
H₂O
A1
DH
A2

Calcolo del risultato:

A1: assorbanza a 340 nm determinata nella miscela con tutti i reattivi tranne la deidrogenasi

A2: assorbanza a 340 nm determinata nella miscela dopo l'aggiunta della deidrogenasi

1. Calcolo del DA

$$(A2-A1)_{\text{campione}} - (A2-A1)_{\text{bianco}} - (A2-A1)_{\text{bianco campione}} = DA$$

2. Concentrazione del lattosio nella provetta

$$\text{Lattosio g/L (C)} = [(V \cdot PM) / (K \cdot d \cdot v \cdot 1000)] \cdot DA$$

V = volume finale nella provetta

v = volume del campione

PM = peso molecolare del lattosio

d = lunghezza della cuvetta (1 cm)

K = coefficiente di assorbanza del NADH a 340 nm ($6.3 \text{ mM} \cdot \text{cm}^{-1}$)

3. Espressione del risultato

$$\% \text{lattosio} = C \cdot \text{fattore di diluizione}$$

La frazione proteica

Contenuto medio 3.5%: classe di sostanze con proprietà differenti e differente composizione

Mezzi di frazionamento:

Acidificazione a pH 4.6

Acidificazione e riscaldamento

Dissalazione per saturazione con solfato ammonico e di magnesio

Frazionamento in diverse classi:

- Caseine
- Lattoalbumine
- Lattoglobuline
- Proteoso-peptoni
- Sostanze azotate non proteiche

CASEINE

Sintetizzate nella ghiandola mammaria

diverse classi identificate per via elettroforetica ($\alpha, \beta, \kappa \dots$)

presenti nel latte sotto forma di micelle

pI = 4.6

Precipitano per azione di enzimi coagulanti, per acidificazione del mezzo e mediante ultracentrifugazione

PROTEINE del SIERO

diverse classi (β -lattoglobulina - S-S, α lattalbumina -enzima...)

Origine ematica:

SIEROALBUMINA, IMMUNOGLOBULINE (identificazione origine del latte)

LATTOFERRINA (trasporto di Fe dal sangue al latte)

Presenti nel latte sotto forma di dispersione colloidale molto fine

Precipitano in seguito a denaturazione termica (100°C)

Restano nel siero dopo precipitazione delle caseine

CASEINE:

Importante dal punto di vista ponderale (circa 80% delle proteine totali), biologico e tecnologico

Glicofosfoproteine:

Ac fosforico esterificato sulla serina

La porzione glucidica è tutta sulla k-caseina

Nel latte sono presenti sotto forma di aggregati micellari che possono essere separati mediante:

Acidificazione

Coagulazione

Coagulazione enzimatica

α -caseina:

199 aa 8 P

Estremamente instabile in presenza di Ca^{++} (insolubile 0.03M Ca^{++})

β -caseina:

209 aa 5 P

Sensibile al Ca^{++} ma meno dell' α -caseina

Estremamente idrofobica

k-caseina:

169 aa 1 P

Glicosilata, stabilizza le caseine nella sospensione micellare. Gli enzimi del caglio rimuovendo il casein-glicopeptide fanno perdere a questa proteina la sua funzione di colloidal protettore

	$\text{Ca}^{2+} 0.03\text{M}$	
	0-4°C	20-25°C
α	ins	ins
β	sol	ins
k	sol	sol

Formazione e struttura delle micelle

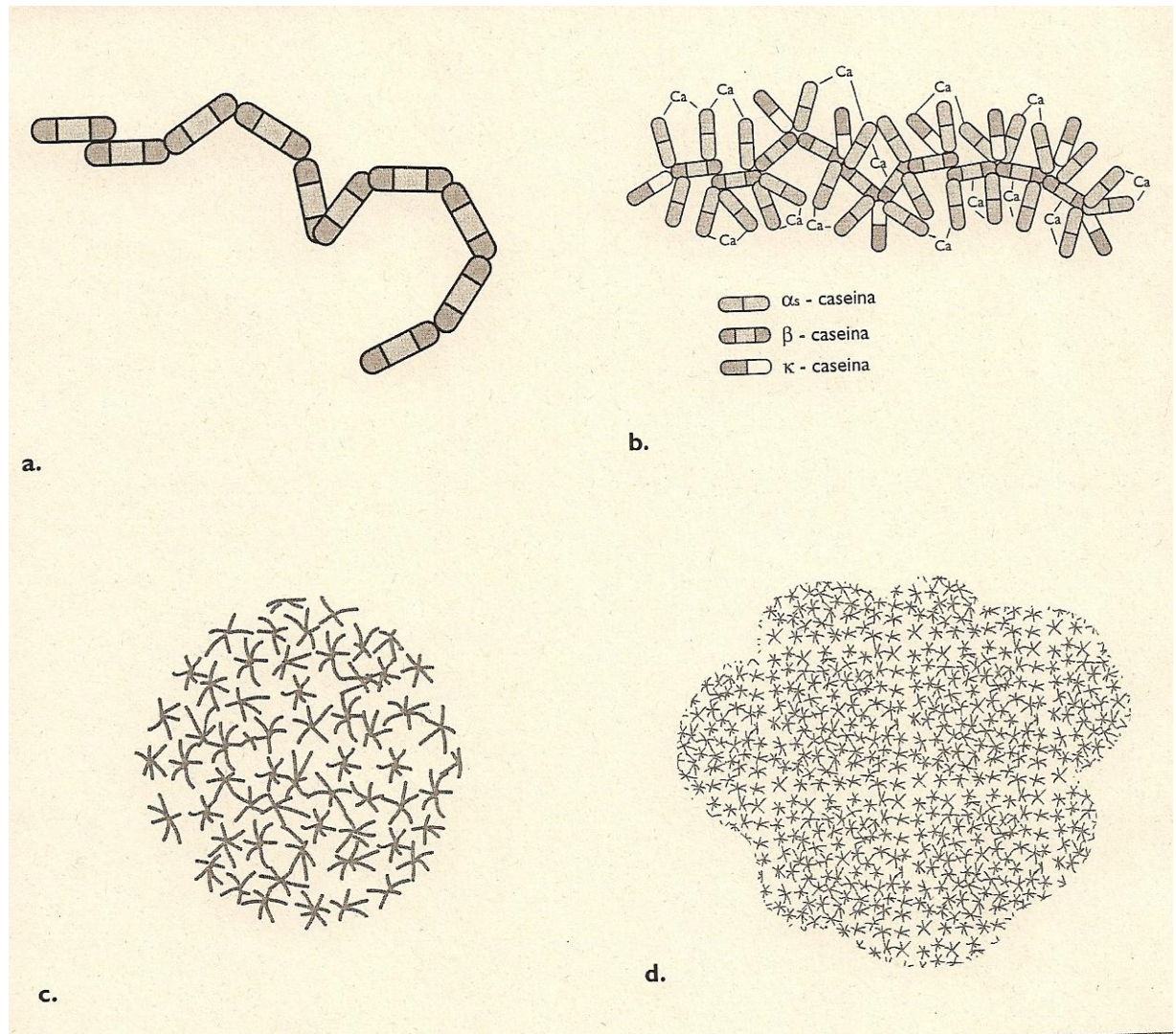
Proteine associate in una struttura quaternaria

- Diametro 30-300 μm
- $n^\circ 10^{14}/\text{ml}$
- $\text{mw } 10^7\text{-}10^8\text{Da}$
- distanza media fra micelle pari al loro diametro

le micelle sono permeabili al siero

Monomeri di caseine si associano a dare sub-micelle tenute assieme da legami H-H instabili

Le interazioni fra submicelle vengono stabilizzate da ponti di idrossiapatite



Stabilizzazione

Precipitazione per

- *abbassamento di pH*
- *innalzamento di temperatura*

IDRATAZIONE e CARICA

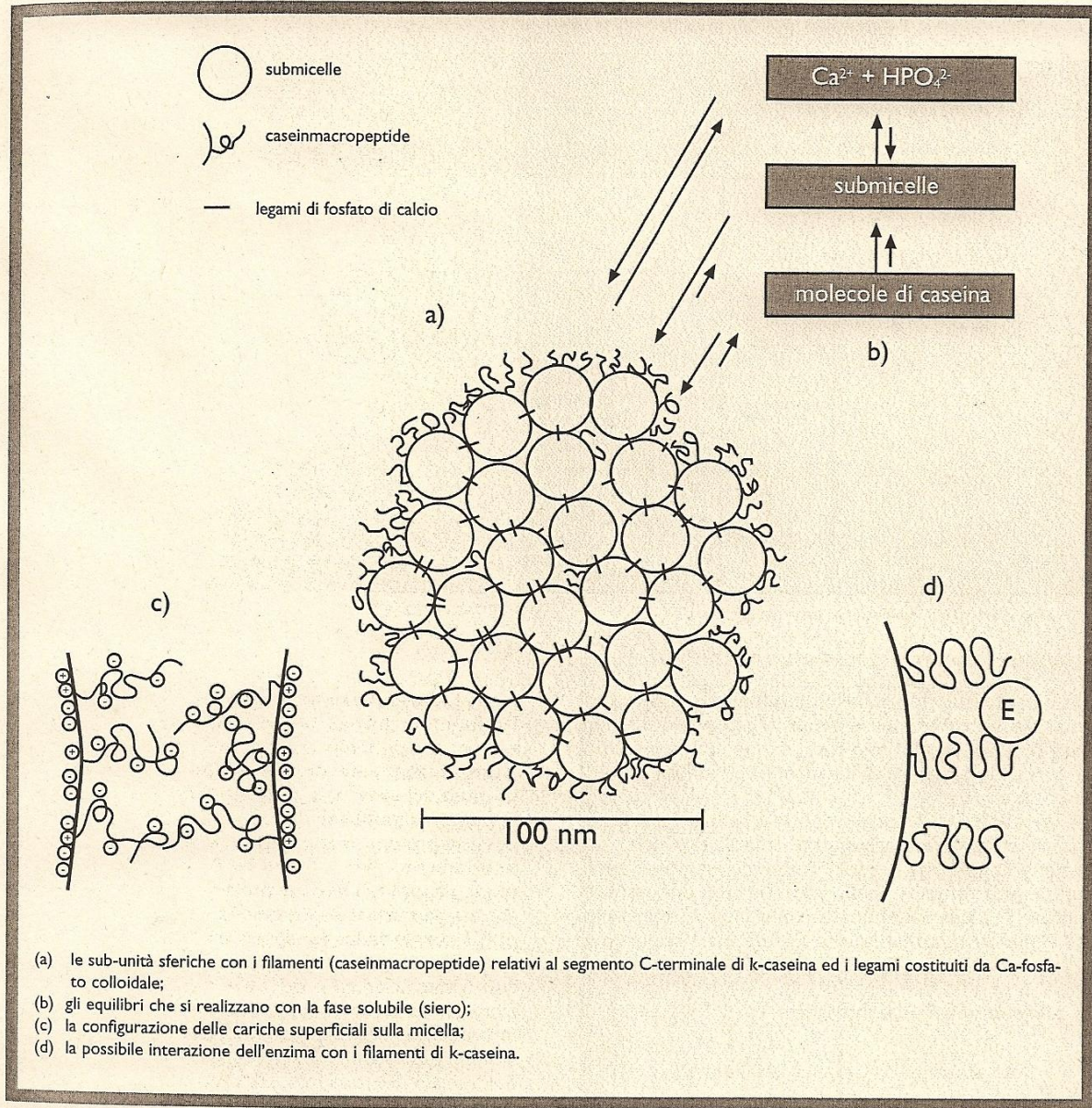
Diminuzioni di pH fino al pI diminuiscono il grado di idratazione delle micelle e ne causano aggregazione e precipitazione

PRESENZA DI ZUCCHERI IN SUPERFICIE

PONTI SALINI

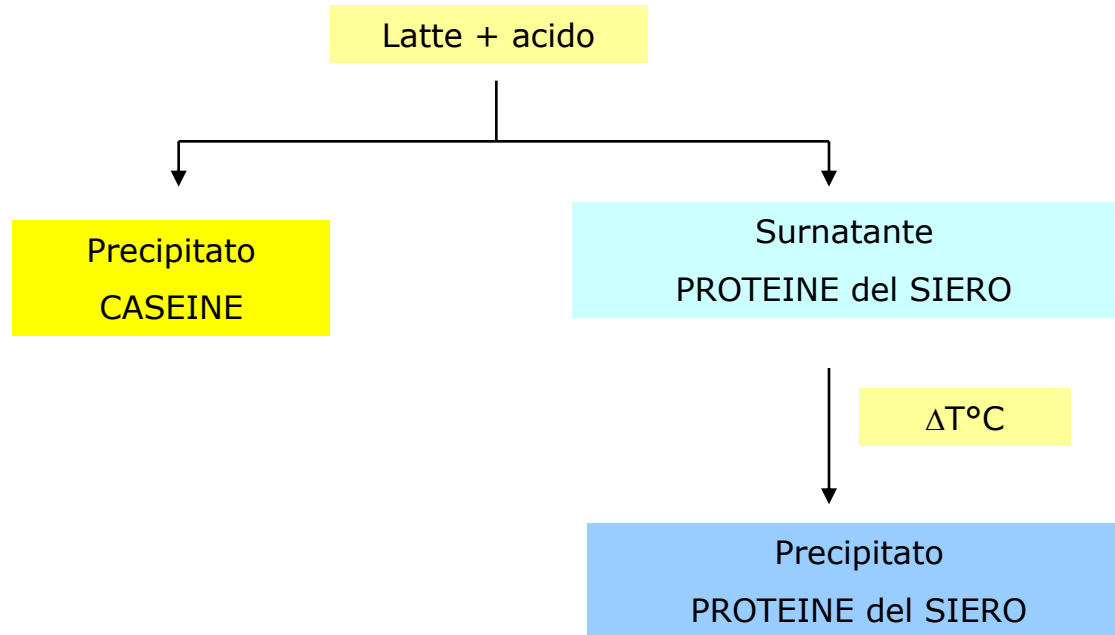
pH e T°C influenzano l'equilibrio dei minerali fra la sospensione ed il siero

Ag chelanti portano alla disorganizzazione delle micelle



DETERMINAZIONE delle PROTEINE

Le diverse frazioni possono essere separate in base alla differente attitudine alla precipitazione.



Il contenuto proteico viene stimato attraverso la determinazione del contenuto di azoto.

Supposto che tutto l'azoto sia di origine proteica e che il contenuto medio di azoto delle proteine sia pari al 16%

$$16:100 = 1:x$$

$$x = 6.25$$

6.25 x contenuto d'azoto determinato = CONTENUTO PROTEICO

Metodo Kjeldhal

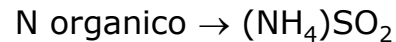
Principio: determinazione del contenuto di azoto

- Digestione della sostanza organica con acidi forti e T elevate
 - Conversione dell' azoto organico in ammonio
 - Distillazione dell'ammonio in ac. borico con formazione di ioni borato (oppure distillazione in acidi a titolo noto)
 - Titolazione degli anioni borato (oppure determinazione del titolo residuo)
 - Relazione fra anioni borato e contenuto di azoto (relazione fra acido consumato e contenuto di azoto)
- ! Si determina l'azoto totale non solo quello di origine proteica

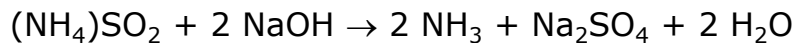
FASI:

1. Preparazione del campione

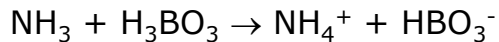
2. Digestione: acido forte H_2SO_4 con catalizzatori per completare la digestione (Hg, Cu), KSO_4 per aumentare la T di ebollizione, ossidanti per facilitare il passaggio da N_2 a NH_4^+ . La digestione viene protratta fino a completo illimpidimento della miscela quando :



3. Neutralizzazione: il campione digerito viene diluito con H_2O ed aggiunto di alcali forti



4. Distillazione



4. Titolazione: gli anioni borato vengono titolati HCl.

5. Calcolo del risultato:

FATTORE di CONVERSIONE

16% contenuto medio di azoto nelle proteine

16 N : 100 proteine = 1 N : x

16/100=6,25 generale

Carne 6.25

Latte 6.38.....

DETERMINAZIONE del contenuto PROTEICO con il metodo KJELDHAL

SCOPO: determinazione del contenuto di proteico del latte

PRINCIPIO: determinazione dell'azoto organico previa mineralizzazione

VETRERIA: pallone da 1L
pipetta a bolla da 25 ml
imbutino con rubinetto
beuta da 300 ml
distillatore
condensatore
buretta

REAGENTI: K_2SO_4 (innalza il p.to di ebollizione)
 $CuSO_4$ (catalizzatore di mineralizzazione)
 H_2SO_4
HCl 0.1
soluzione di metilarancio
NaOH 12.5 N
NaOH 0.1N

PROCEDIMENTO

1. Porre nel pallone 5 g di latte, 15 g di K_2SO_4 , 0.4 g di $CuSO_4$ e 25 ml di H_2SO_4
2. Riscaldare fino a quando la miscela diventa trasparente (mineralizzazione completa)
3. Lasciar raffreddare ed aggiungere 300 ml di acqua
4. Mettere nella beuta 25 ml di HCl 0.1 N e alcune gocce di indicatore e collegare la beuta al tubo di condensa del distillatore.
5. Aggiungere al pallone 100 mL di NaOH 12.5 N, collegare al distillatore e riscaldare
6. Distillare circa 100 ml di liquido
7. recuperare la beuta e titolare l'acido rimasto con NaOH 0.1 N

Calcolo del risultato:

Siano **10 i ml di NaOH 0.1N utilizzati (risponso dell'analisi)** per titolare l'HCl con titolo iniziale 0.1N

$\text{NaOH eq } 0.1 : 1000 \text{ ml} = \text{x eq} : 10 \text{ ml}$

0.001 eq utilizzati di NaOH \Rightarrow eq residui di HCl

$\text{HCl } 0.1 \text{ eq} : 1000 = \text{x eq} : 25 \text{ ml (ml titolati di HCl } 0.1\text{N)} \Rightarrow 0.0025 \text{ eq iniziali di HCl}$

$0.0025 \text{ eqi} - 0.001 \text{ eqr} = \mathbf{0.0015 \text{ eq di N}}$

$0.0015 \text{ eq} : 5 \text{ g di latte} = \text{x eq} : 100 \text{ g} \Rightarrow 0.03 \text{ eq N/100 g di latte}$

$0.03 \text{ eq} \times 14 \text{ g/eq (peso equivalente dell'N)} = 0.42 \text{ g N} / 100 \text{ g latte}$

$\mathbf{0.42 \text{ g} \times 6.38 = 2.67 \text{ g di proteine} / 100 \text{ g latte}}$

Vantaggi & Svantaggi

- Versatile (tipo di campione e contenuto proteico)
- Costo contenuto
- Accurato, approvato da AOAC
- N totale non solo proteico (per es. ac.nucleici....)
- Tempi per ottenere il responso relativamente lunghi
- Reagenti corrosivi

Metodo con il reattivo di Biureto

Principio: determinazione del legame peptidico per via colorimetrica.

Cu^{++} si complessano in ambiente alcalino al legame peptidico e sviluppano un'intensa colorazione blu.

Fasi:

Mescolare colorante e campione

Determinazione Abs 540nm

Calcolo del risultato utilizzando una retta di taratura ottenuta per calibrazione con un metodo indipendente (Kjeldhal è quello di riferimento).

Vantaggi&Svantaggi

- Accettato da AOAC
- Semplice esecuzione, relativamente veloce
- Non molto sensibile (limite di rilevabilità 2-4 mg)
- Variazioni dello spettro di assorbimento con la composizione aa della proteina

Metodo con il reattivo di Lowry

Principio: alla complessazione di Cu^{++} si affianca la riduzione del reattivo di Folin Ciocalteu da parte degli aa aromatici.

Sviluppo di un addotto colorato

Più sensibile del Biureto, soggetto alla specifica composizione proteica

Assorbimento nell'UV

Principio: aa aromatici caratteristicamente assorbono nella regione UV dello spettro (280nm).

Bassa specificità, campione limpido

Metodo con il reattivo di Bradford

Principio: il colorante Coomassie blu si lega alla catena peptidica mediante interazioni idrofobiche e sviluppa un addotto colorato.

Rapido(2 min), specifico per le proteine (risente della taglia)

Il contenuto della lezione è tratto da Food Analysis S. Nielsen cap.9

Si raccomanda la consultazione del testo nel quale sono riportati ottimi schemi dei dispositivi di misura oggetto della lezione

DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO PROTEICO

Metodi analitici basati su: contenuto di azoto
 legame peptidico
 aa aromatici
 capacità di diffondere la luce
 formazione di addotti colorati

	Kjeldhal	IR	Biureto	Lowry	Bradford	UV
Preparaz.campione	no	no	E&P	E&P	E&P	E&P
Sensibilità	-	-	-	++	++	++
Velocità	--	++	-	-	+	+
Standardizzazione	no	+	+	+	+	+
